

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

(11) N° de publication :  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

2 781 886

(21) N° d'enregistrement national :

98 09868

(51) Int Cl<sup>7</sup> : G 01 N 33/543, G 01 N 27/26, B 01 L 3/00, B 81 B 7/00, B 81 C 1/00

(12)

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 31.07.1998

(43) Date de la mise à disposition du public de la  
demande : 04.02.2000 Bulletin 2000/05

(71) Demandeur(s) :

COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE  
*Etablissement de caractère scientifique technique et  
industriel - FR*

(72) Inventeur(s) :

CAILLAT PATRICE, CLERC JEAN FREDERIC

(74) Mandataire(s) :

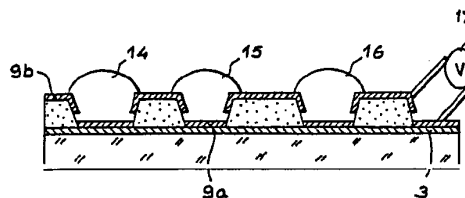
BREVATOME

### (54) MICRO-SYSTEME A MULTIPLE POINTS D'ANALYSE CHIMIQUE OU BIOLOGIQUE

(57)

L'invention concerne la réalisation d'un micro-système à multiples points d'analyse chimique ou biologique. Elle consiste à :

- concevoir un substrat pourvu de micro-cuvettes, chaque micro-cuvette étant destinée à recevoir un réactif couplé à un polymère conducteur, chaque micro-cuvette possédant une électrode de réception (9a) sur laquelle doit être fixé le réactif couplé au polymère conducteur, le substrat possédant des moyens permettant l'application d'un champ électrique simultanément dans chaque micro-cuvette entre l'électrode de réception et une contre-électrode (9b) correspondante,
- déposer une solution électrolytique (14, 15, 16) porteuse dudit réactif couplé audit polymère dans chaque micro-cuvette,
- appliquer ledit champ électrique simultanément à plusieurs micro-cuvettes afin de fixer, dans chaque micro-cuvette, ledit polymère conducteur à l'électrode de réception,
- rincer les micro-cuvettes du substrat pour éliminer le restant de la solution porteuse.



①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

①1 N° de publication :  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

2 781 886

②1 N° d'enregistrement national : 98 09868

⑤1 Int Cl<sup>7</sup> : G 01 N 33/543, G 01 N 27/26, B 01 L 3/00, B 81 B 7/00, B 81 C 1/00

⑫

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 31.07.98.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la demande : 04.02.00 Bulletin 00/05.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE Etablissement de caractère scientifique technique et industriel — FR.

⑦2 Inventeur(s) : CAILLAT PATRICE et CLERC JEAN FREDERIC.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire(s) : BREVATOME.

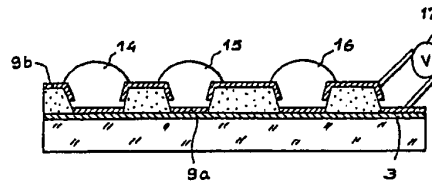
⑤4 MICRO-SYSTEME A MULTIPLE POINTS D'ANALYSE CHIMIQUE OU BIOLOGIQUE.

⑤7 L'invention concerne la réalisation d'un micro-système à multiples points d'analyse chimique ou biologique. Elle consiste à :

- concevoir un substrat pourvu de micro-cuvettes, chaque micro-cuvette étant destinée à recevoir un réactif couplé à un polymère conducteur, chaque micro-cuvette possédant une électrode de réception (9a) sur laquelle doit être fixé le réactif couplé au polymère conducteur, le substrat possédant des moyens permettant l'application d'un champ électrique simultanément dans chaque micro-cuvette entre l'électrode de réception et une contre-électrode (9b) correspondante,

- déposer une solution électrolytique (14, 15, 16) porteuse dudit réactif couplé audit polymère dans chaque micro-cuvette,

- appliquer ledit champ électrique simultanément à plusieurs micro-cuvettes afin de fixer, dans chaque micro-cuvette, ledit polymère conducteur à l'électrode de réception,
- rincer les micro-cuvettes du substrat pour éliminer le restant de la solution porteuse.



FR 2 781 886 - A1



1

MICRO-SYSTEME A MULTIPLE POINTS D'ANALYSE CHIMIQUE OU  
BIOLOGIQUE

5    Domaine technique

La présente invention concerne un micro-système à multiple points d'analyse chimique ou biologique.

10        La micro-électronique classique est de plus en plus appelée à être un maillon de systèmes beaucoup plus complexes dans lesquels plusieurs fonctions sont intégrées. Ces systèmes ou micro-systèmes vont des applications capteurs physiques aux derniers  
15    développement de puces dites "biologiques".

Dans le premier cas, une cellule sensible capable de mesurer un phénomène physique est associé à un circuit intégré capable d'assurer le traitement de l'information et son exploitation. C'est le cas des  
20    coussins pneumatiques de sécurité de l'industrie automobile (connus sous le nom de "air-bag" dans la terminologie anglo-saxonne).

Dans le deuxième cas, un circuit intégré subit une finition lui permettant d'être utilisé dans  
25    un milieu biologique. C'est le cas par exemple d'un mesureur de glucose intégré ou des sondes de pression sanguine.

Dans tous les cas, l'interface entre le milieu de la micro-électronique classique et celui des  
30    capteurs ou des biologistes est l'élément clef de ces micro-systèmes.

L'analyse chimique ou biologique est en train de subir la révolution de la miniaturisation liée à l'utilisation des microtechnologies. Lorsque des  
35    tests multiples peuvent être regroupés sur un support

de quelques mm<sup>2</sup>, les coûts sont réduits et une analyse naguère exceptionnelle peut être utilisée de façon courante.

La demande vers des systèmes permettant  
5 l'analyse chimique ou biologique à très grand nombre de points est en émergence à l'heure actuelle avec l'apparition du screening en pharmacologie et des tests ADN en biologie.

Dans le premier cas, il faut déterminer sur  
10 un support comportant un grand nombre de cuvettes remplies du même réactif, l'effet de différentes molécules que l'on dépose sélectivement dans chaque cuvette de façon séquentielle. Dans le deuxième cas chaque cuvette est remplie d'une sonde ADN différente  
15 et l'analyte dont on veut connaître la séquence génomique est mis en contact au moment de l'analyse avec l'ensemble des cuvettes. En chimie analytique également la demande est forte vers la miniaturisation des cuvettes de réactions chimiques.

20 Tant d'un point de vue réalisation des cuvettes, dépôt des liquides dans ces cuvettes que système de lecture et d'acquisition des résultats, les efforts en Recherche et Développement sont importants.

## 25 Etat de la technique antérieure

Dans le domaine de l'analyse biologique ou plus généralement des tests en pharmacologie de nouvelles molécules, la réduction de la taille de  
30 l'outil de test est extrêmement séduisante d'un point de vue économique. Plus précisément, on peut assimiler un micro-système d'analyse à une structure associant un support sur lequel des réactifs différents sont tout d'abord fixés puis mis en présence de la solution à  
35 analyser, et une méthode permettant de mesurer la

réactivité obtenue. Eventuellement, un traitement dans le micro-système lui-même de l'information obtenue peut être prévu.

Il existe différentes techniques pour fixer  
5 des réactifs différents sur un substrat.

Une première technique consiste à activer des sites où seront ensuite déposés et fixés les réactifs par des molécules chimiques diverses. C'est une technique principalement employée sur des substrats  
10 en verre. Les réactifs sont déposés par micro-pipettage ou par une technique du type jet d'encre. Côté chimie, pour assurer l'interface entre le substrat et le réactif, on peut citer les silanes, les lysines, les thioles lorsque le substrat est préalablement recouvert  
15 d'or. Cette chimie est complexe, surtout lorsqu'il s'agit de maîtriser sa reproductibilité sur un substrat pouvant comporter quelques milliers de sites différents. On peut citer, comme représentatif de cette technique, le brevet US 5 474 796 qui se rapporte à la  
20 structuration de surface : les réactifs sont fixés sur un substrat présentant des zones hydrophiles et des zones hydrophobes. Le matriçage obtenu est de ce fait très régulier.

Selon une deuxième technique appliquée au  
25 domaine des puces à ADN (le réactif est une sonde ADN, notamment un oligonucléotide d'une vingtaine de bases), il a été proposé de construire la sonde base après base sur chaque site. Il est connu d'utiliser des masquages successifs pour faire cette synthèse in situ : chaque  
30 site est recouvert d'une base photoprotégée. Le photomasquage permet ensuite d'ôter la protection des sites et de venir accrocher chimiquement une base supplémentaire photoprotégée. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention, sur chaque site, de la sonde  
35 voulue. Il est actuellement possible de construire

plusieurs dizaines de milliers de sondes différentes sur un substrat. Cette technique est excellente mais elle ne permet pas d'obtenir des sondes à grand nombre de bases (la limite est d'environ 20). Il est possible également de fixer au départ une base protégée non plus par un radical photosensible mais par un radical chimiquement sensible. Il faut alors, par pipettage ou par une technique du type jet d'encre, venir localement sur les sites choisis pour ôter la protection de la base existante et y accrocher une base supplémentaire.

Une troisième technique concerne l'électrodéposition sur site polarisé électriquement d'un polymère conducteur porteur de l'espèce réactive choisie. On peut se reporter à ce sujet à l'article "Electropolymerization of pyrrole and immobilization of glucose oxidase in a flow system : influence of the operating conditions on analytical performance" de Juan-C. VIDAL et al., paru dans Biosensors & Bioelectronics, vol. 13, No 3-4, pages 371-382, 1998. Le substrat est relié électriquement vers l'extérieur et trempé dans une cuve contenant l'espèce chimique à déposer. Le site choisi est polarisé et la copolymérisation s'effectue (en moins d'une minute sous une tension inférieure à 1 V). On passe à une autre solution porteuse d'un autre réactif, un autre site est polarisé à la surface du substrat et ainsi de suite. Par ce moyen, des réactifs différents ont été fixés sur des zones différentes du substrat, permettant ainsi une analyse multipoint.

Une amélioration intéressante de cette dernière technique consiste à intégrer l'électronique d'adressage des sites dans le substrat lui-même. Les polymères conducteurs utilisés pour ce procédé sont les polyanilines, les polypyrroles. On peut se reporter à ce sujet aux documents WO 94/22 889, FR-A-2 741 475 et

FR-A-2 741 476. Cette façon de faire est intéressante car la fixation de la sonde sur son site est forte, reproductible et bien maîtrisée. C'est une technique séquentielle : chaque site est polarisé successivement  
5 et le substrat est recouvert totalement ou trempé dans la solution porteuse du réactif à chaque passe. Cependant, lorsque le nombre de sites devient important, le temps de traitement de chaque support de sites devient prohibitif : autant de fois le temps de  
10 copolymérisation plus le temps de rinçage et d'introduction du nouvel électrolyte.

L'utilisation de ces dispositifs à sondes biologiques peut faire appel à une palette très étendue de méthodes : mesure électrique par impédance-métrie,  
15 microbalance, mesure optique par changement d'indice de réfraction, marquage radioactif, fluorescence. Cette dernière méthode est de plus en plus utilisée car elle est relativement facile à mettre en oeuvre et elle présente une bonne sensibilité. Schématiquement, elle  
20 consiste à coupler l'analyte à tester avec un fluophore. L'analyte est mis en contact avec le réactif fixé localement sur le micro-système. S'il y a réaction/appariement de quelque nature que ce soit, il restera sur la zone de test l'analyte portant le  
25 fluophore. Après lavage, une lecture de la fluorescence permettra de déterminer s'il y a eu appariement sur le site porteur.

#### Exposé de l'invention

30

Pour remédier aux problèmes de l'art antérieur, la présente invention propose l'utilisation d'une structure qui permet de fixer, en une seule étape d'électrocopolymérisation, des réactifs couplés à des

polymères conducteurs sur des sites électriquement connectés vers l'extérieur.

L'invention a donc pour objet un procédé de réalisation d'un micro-système à multiples points  
5 d'analyse chimique ou biologique, comprenant les étapes consistant à :

- concevoir une structure pourvue de micro-cuvettes, chaque micro-cuvette étant destinée à recevoir un réactif couplé à un polymère conducteur,  
10 chaque micro-cuvette possédant une électrode de réception sur laquelle doit être fixé le réactif couplé au polymère conducteur, la structure possédant des moyens permettant l'application d'un champ électrique simultanément dans chaque micro-cuvette entre  
15 l'électrode de réception et une contre-électrode correspondante,

- déposer une solution électrolytique porteuse dudit réactif couplé audit polymère dans chaque micro-cuvette,

20 - appliquer - ledit champ électrique simultanément à plusieurs micro-cuvettes afin de fixer, dans chaque micro-cuvette, ledit polymère conducteur à l'électrode de réception,

- rincer les micro-cuvettes de la structure  
25 pour éliminer le restant de la solution porteuse.

Selon une première variante du procédé, la structure est conçue à partir d'un substrat passif sur une face duquel on dépose d'abord une première couche conductrice puis une première couche de matériau  
30 isolant, la première couche de matériau isolant étant creusée jusqu'à la première couche conductrice pour former lesdites micro-cuvettes, la première couche conductrice révélée formant les électrodes de réception des micro-cuvettes, une deuxième couche conductrice  
35 étant déposée à la surface de la première couche de



matériau isolant pour constituer une contre-électrode commune à plusieurs micro-cuvettes.

Selon une deuxième variante du procédé, la structure est conçue à partir d'un substrat actif  
5 présentant lesdites électrodes de réception sur l'une de ses faces, une première couche de matériau isolant étant déposée sur ladite face, la première couche de matériau isolant étant creusée jusqu'aux électrodes de  
10 réception pour former les micro-cuvettes, une couche conductrice étant déposée à la surface de la première couche de matériau isolant pour constituer une contre-électrode commune à plusieurs micro-cuvettes, des  
15 moyens de multiplexage étant prévus pour relier électriquement toutes les électrodes de réception afin d'appliquer ledit champ électrique.

Une deuxième couche de matériau isolant peut être déposée sur la couche conductrice formant la contre-électrode pour obtenir une contre-électrode enterrée. Une couche conductrice peut être disposée  
20 au-dessous de la deuxième couche isolante de façon à fournir une pseudo-électrode de référence.

L'invention a aussi pour objet un micro-système à multiples points d'analyse chimique ou biologique constitué par une structure pourvue de  
25 micro-cuvettes, chaque micro-cuvette étant destinée à recevoir un réactif couplé à un polymère conducteur, chaque micro-cuvette possédant une électrode de réception sur laquelle est fixé le réactif par  
l'intermédiaire du polymère conducteur auquel il est  
30 couplé, la structure possédant des moyens permettant l'application simultanée d'un champ électrique dans chaque micro-cuvette entre l'électrode de réception et une contre-électrode correspondante.

Selon une première variante, la structure  
35 peut comporter un substrat passif dont une face est

recouverte d'une première couche conductrice elle-même recouverte d'une première couche de matériau isolant, la première couche de matériau isolant comportant lesdites micro-cuvettes révélant la première couche conductrice qui forme lesdites électrodes de réception, la première couche de matériau isolant supportant une deuxième couche conductrice constituant une contre-électrode commune.

Selon une deuxième variante, la structure peut comporter un substrat actif dont une face présente lesdites électrodes de réception et est recouverte d'une première couche de matériau isolant comportant lesdites micro-cuvettes dont le fond correspond aux électrodes de réception, la première couche de matériau isolant supportant une couche conductrice constituant une contre-électrode commune, des moyens de multiplexage étant prévus pour relier électriquement toutes les électrodes de réception.

Une deuxième couche de matériau isolant peut recouvrir la couche conductrice constituant la contre-électrode pour enterrer celle-ci. La deuxième couche isolante peut supporter une couche conductrice servant de pseudo-électrode de référence.

## 25 Brève description des dessins

L'invention sera mieux comprise et d'autres avantages et particularités apparaîtront à la lecture de la description qui va suivre, donnée à titre d'exemple non limitatif, accompagnée des figures annexées parmi lesquelles :

- les figures 1A à 1H représentent différentes étapes d'un procédé de réalisation d'un micro-système à multiple points d'analyse chimique ou biologique selon la présente invention,

- la figure 2 représente une variante d'un micro-système à multiple points d'analyse chimique ou biologique selon la présente invention,

5       - les figures 3A à 3C illustrent des étapes d'un autre procédé de réalisation d'un micro-système à multiple points d'analyse chimique ou biologique selon la présente invention,

10       - la figure 4 représente encore une autre variante d'un micro-système à multiple points d'analyse chimique ou biologique selon la présente invention.

Description détaillée de modes de réalisation de l'invention.

15               Pour la réalisation du micro-système selon l'invention deux cas sont à considérer. La structure peut comporter un substrat passif, c'est-à-dire qu'il ne comporte pas d'électronique intégrée. Dans ce cas, le substrat peut être revêtu d'un plan conducteur (par  
20   exemple métallique) lui-même recouvert d'une couche d'un matériau assurant la fonction d'isolation électrique et dans lequel sont formées les micro-cavités. Celles-ci débouchent localement sur le plan conducteur. Les zones découvertes du plan  
25   conducteur constituent alors les électrodes de réception.

              Le substrat peut aussi être actif auquel cas l'électronique qui lui est intégrée peut servir à différentes fonctions : chauffage localisé des sites,  
30   mesure locale de pH, lecture d'un signal de fluorescence, etc. Dans la plupart des cas, il n'est pas possible de laisser en court-circuit les sites pour les fonctions ultérieures qui doivent rester adressables sur chaque site indépendamment des autres.  
35   Le multiplexage nécessaire à ces fonctions peut alors

être utilisé au cours du procédé de réalisation du micro-système. Il est en effet possible d'adresser collectivement tous les sites pour effectuer l'opération de fixation des réactifs. Chaque site  
5 pourra ultérieurement être adressé de façon individuelle.

Les figures 1A à 1H sont des vues en coupe transversale et partielles. Elles illustrent un premier mode de réalisation d'un micro-système selon  
10 l'invention pour lequel la contre-électrode est située en surface et pour lequel le substrat est passif.

La figure 1A représente un substrat 1 constitué par une plaquette parallélépipédique qui peut être en un matériau tel que le verre, le silicium, le  
15 plastique. Sur une face principale de cette plaquette on a déposé une couche métallique 3, par exemple en chrome, en or ou en platine, d'une épaisseur comprise entre 0,1 et 10  $\mu\text{m}$ . Comme le montre la figure 1B, on dépose, sur la couche métallique 3, un film de polymère  
20 photosensible 5, par exemple un film de polyimide d'une épaisseur comprise entre 1 et 50  $\mu\text{m}$ .

Des micro-cuvettes 7 sont ensuite formées par insolation et développement du film de polyimide (voir la figure 1C). Elles sont avantageusement formées  
25 avec des flancs en pente. Les micro-cuvettes formées révèlent localement la couche métallique 3. Une nouvelle couche métallique 9 est alors uniformément déposée sur le film de polyimide y compris l'intérieur des micro-cuvettes 7. La couche métallique 9 peut être  
30 en chrome, en or ou en platine et avoir 0,1 à 10  $\mu\text{m}$  d'épaisseur.

Comme le montre la figure 1D, une couche de résine de masquage 11 est déposée sur la couche métallique 9 et des zones à graver dans cette couche  
35 métallique 9 sont définies.

La couche métallique 9 est alors gravée aux endroits accessibles et la résine 11 est retirée. On obtient la structure représentée à la figure 1E. Chaque micro-cuvette 7 présente en son fond une électrode 9a, toutes les électrodes 9a étant connectées électriquement grâce à la couche métallique 3. Une électrode commune 9b recouvre la face supérieure du film de polymère 5.

Par une technique de microfluidique (micro-capillaire, plumier, tête d'impression du type à jet d'encre, etc.), on dépose dans chaque micro-cuvette 7 une solution porteuse d'un réactif. La figure 1F montre un système de distribution, représenté schématiquement sous la référence 13, fournissant dans chaque micro-cuvette 7 une goutte 14, 15, 16 d'une solution électrolytique porteuse d'un réactif particulier.

La figure 1G montre les gouttes 14, 15, 16 de solutions électrolytiques disposées dans les micro-cuvettes. Les micro-cuvettes empêchent le mélange des différentes solutions. Les quantités de solutions électrolytiques sont telles qu'elles referment le circuit électrochimique entre les électrodes 9a et la contre-électrode 9b.

Par application d'un champ électrique approprié fourni par un générateur de tension 17 branché entre la couche métallique 3 et la contre-électrode 9b, on obtient la fixation des polymères conducteurs sur les électrodes 9a.

On procède ensuite à un rinçage des micro-cuvettes 7 pour obtenir, dans chaque micro-cuvette, un réactif 14a, 15a, 16a fixé à une électrode 9a par un polymère conducteur.

Dans le cas où le substrat est actif, les électrodes de réception du réactif ne peuvent

généralement être reliées en permanence à une couche conductrice commune. Dans ce cas, comme cela est représenté à la figure 2, le substrat 21 est équipé à l'origine avec des électrodes de réception 22, 23, 24 isolées électriquement les unes des autres d'une manière générale mais pouvant être, grâce à un système de multiplexage, reliées collectivement à l'une des bornes d'un générateur de tension. Le reste de la structure est similaire à la structure décrite précédemment : film de polymère photosensible 25 dans lequel sont formées des micro-cuvettes 27 et supportant une contre-électrode 29.

Les figures 3A à 3C illustrent la réalisation d'une autre variante pour laquelle la contre-électrode est enterrée. Le contact entre la solution électrolytique et l'électrode de réception se fait comme précédemment soit avec des électrodes de réception connectées en permanence à une couche conductrice commune, soit avec des électrodes de réception isolées électriquement les unes des autres mais pouvant être adressées simultanément par multiplexage. A titre d'exemple, les figures 3A à 3C illustrent le cas où les électrodes de réception sont connectées en permanence à une couche conductrice commune. Les premières étapes du procédé sont similaires à celles illustrées par les figures 1A et 1B et, pour cette raison, ne sont pas représentées.

La figure 3A montre le substrat 31 recouvert de la couche métallique 33 et du film de polymère photosensible 35 qui a été photolithographié et gravé, révélant ainsi la couche métallique 33 au fond de trous 36 réalisés dans le film 35.

On dépose ensuite sur la face supérieure de la structure une couche métallique, par exemple en chrome, en or ou en platine, d'une épaisseur comprise

entre 0,1 et 10  $\mu\text{m}$ . cette couche est photolithographiée et gravée pour laisser des zones 32 sur le film 35, ces zones 32 constituant la contre-électrode (voir la figure 3B).

5 Une autre couche de polymère 38 est alors déposée et gravée pour achever les micro-cuvettes. La gravure forme des trous 39 centrés sur les trous 36 et de diamètre plus grand. Elle laisse déborder dans les micro-cuvettes 37 la contre-électrode 32 (voir la figure 3C). Le fond métallisé 34 d'une micro-cuvette constitue une électrode de réception pour le micro-système.

15 La structure obtenue peut alors être traitée comme précédemment pour recevoir les réactifs prévus. Cette structure offre un meilleur contact entre l'électrolyte et la contre-électrode.

Une variante à la structure qui vient d'être décrite consiste à introduire une troisième électrode en surface pour servir de référence. Il peut s'agir d'une référence absolue (avec un gel) ou d'une pseudo-référence (par exemple  $\text{Ti/TiO}_2$ ). La cellule constituée comporte alors une électrode de réception, une contre-électrode et une électrode de référence. Cette solution est représentée à la figure 4 qui montre : un substrat 41 (passif dans cet exemple), un plan conducteur 42 fournissant localement les électrodes de réception, la contre-électrode 43 et l'électrode de référence 44. On peut évidemment intervertir les plans métalliques et laisser en surface la contre-électrode et en niveau intermédiaire l'électrode de référence.

30 L'invention procure l'avantage de la simplicité du dépôt des solutions électrolytiques par une technique de fluidique. Elle permet un mode de fixation particulièrement robuste et neutre

chimiquement grâce aux polymères conducteurs. Un grand nombre de réactifs peuvent être facilement introduits puisque l'opération de fixation est collective. Les polymères peuvent être greffés avec de nombreux types  
5 de corps chimiques et biologiques (glucose oxydase, antigènes, sondes ADN, etc.).

La solution offerte par l'invention est compatible avec la synthèse in situ de sondes nucléiques par voie chimique décrite en début de  
10 description. La première base est fixée par un polymère conducteur et la construction ultérieure est menée par voie chimique. Le polypyrrole est alors un bon candidat à cause de sa grande stabilité chimique. Ce mode de fixation est attractif car très robuste par comparaison  
15 à des fixations par silanisation par exemple.

Cette technique présente en outre l'avantage d'être compatible avec l'utilisation de substrats actifs en mettant en oeuvre la fonction électronique intégrée pour l'étape de fixation  
20 collective.



## REVENDICATIONS

1. Procédé de réalisation d'un micro-système à multiples points d'analyse chimique ou biologique, comprenant les étapes consistant à :
- concevoir une structure pourvue de micro-cuvettes (7 ; 37), chaque micro-cuvette étant destinée à recevoir un réactif (14a, 15a, 16a) couplé à un polymère conducteur, chaque micro-cuvette possédant une électrode de réception (9a ; 22, 23, 24 ; 34) sur laquelle doit être fixé le réactif couplé au polymère conducteur, la structure possédant des moyens permettant l'application d'un champ électrique simultanément dans chaque micro-cuvette entre l'électrode de réception et une contre-électrode (9b ; 32 ; 43) correspondante,
  - déposer une solution électrolytique (14, 15, 16) porteuse dudit réactif couplé audit polymère dans chaque micro-cuvette,
  - appliquer ledit champ électrique simultanément à plusieurs micro-cuvettes afin de fixer, dans chaque micro-cuvette, ledit polymère conducteur à l'électrode de réception,
  - rincer les micro-cuvettes de la structure pour éliminer le restant de la solution porteuse.
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la structure est conçue à partir d'un substrat passif (1) sur une face duquel on dépose d'abord une première couche conductrice (3) puis une première couche de matériau isolant (5), la première couche de matériau isolant étant creusée jusqu'à la première couche conductrice (3) pour former lesdites micro-cuvettes (7), la première couche conductrice révélée formant les électrodes de réception des micro-cuvettes, une deuxième couche conductrice (9)

étant déposée à la surface de la première couche de matériau isolant pour constituer une contre-électrode commune (9b) à plusieurs micro-cuvettes.

3. Procédé selon la revendication 1,  
5 caractérisé en ce que la structure est conçue à partir d'un substrat actif (21) présentant lesdites électrodes de réception (22, 23, 24) sur l'une de ses faces, une première couche de matériau isolant (25) étant déposée sur ladite face, la première couche de matériau isolant  
10 étant creusée jusqu'aux électrodes de réception pour former les micro-cuvettes (27), une couche conductrice étant déposée à la surface de la première couche de matériau isolant pour constituer une contre-électrode (29) commune à plusieurs micro-cuvettes, des moyens de  
15 multiplexage étant prévus pour relier électriquement toutes les électrodes de réception afin d'appliquer ledit champ électrique.

4. Procédé selon l'une des revendications 2 ou 3, caractérisé en ce qu'une deuxième couche de  
20 matériau isolant (38) est déposée sur la couche conductrice formant la contre-électrode pour obtenir une contre-électrode (32) enterrée.

5. Procédé selon la revendication 4, caractérisé en ce qu'une couche conductrice est  
25 disposée au-dessus de la deuxième couche de matériau isolant (38) de façon à fournir une pseudo-électrode de référence (44).

6. Micro-système à multiples points d'analyse chimique ou biologique constitué par une  
30 structure pourvue de micro-cuvettes (7 ; 37), chaque micro-cuvette étant destinée à recevoir un réactif (14a, 15a, 16a) couplé à un polymère conducteur, chaque micro-cuvette possédant une électrode de réception (9a ; 22, 23, 24 ; 34) sur laquelle est fixé le réactif  
35 par l'intermédiaire du polymère conducteur auquel il

est couplé, la structure possédant des moyens permettant l'application simultanée d'un champ électrique dans chaque micro-cuvette entre l'électrode de réception et une contre-électrode correspondante  
5 (9b ; 32 ; 43).

7. Micro-système selon la revendication 6, caractérisé en ce que la structure comporte un substrat passif (1) dont une face est recouverte d'une première couche conductrice (3) elle-même recouverte d'une  
10 première couche de matériau isolant (5), la première couche de matériau isolant comportant lesdites micro-cuvettes (7) révélant la première couche conductrice qui forme lesdites électrodes de réception, la première couche de matériau isolant supportant une  
15 deuxième couche conductrice (9) constituant une contre-électrode commune.

8. Micro-système selon la revendication 6, caractérisé en ce que la structure comporte un substrat actif (21) dont une face présente lesdites électrodes  
20 de réception (22, 23, 24) et est recouverte d'une première couche de matériau isolant (25) comportant lesdites micro-cuvettes (27) dont le fond correspond aux électrodes de réception, la première couche de matériau isolant supportant une couche conductrice  
25 constituant une contre-électrode (29) commune, des moyens de multiplexage étant prévus pour relier électriquement toutes les électrodes de réception.

9. Micro-système selon l'une des revendications 7 ou 8, caractérisé en ce qu'une  
30 deuxième couche de matériau isolant (38) recouvre la couche conductrice constituant la contre-électrode (32) pour enterrer celle-ci.

10. Micro-système selon la revendication 9, caractérisé en ce que la deuxième couche de matériau

isolant (38) supporte une couche conductrice servant de pseudo-électrode de référence (44).

113

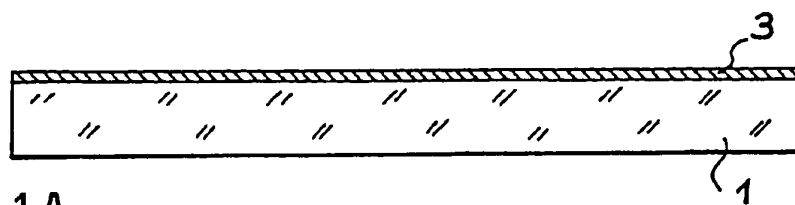


FIG. 1A

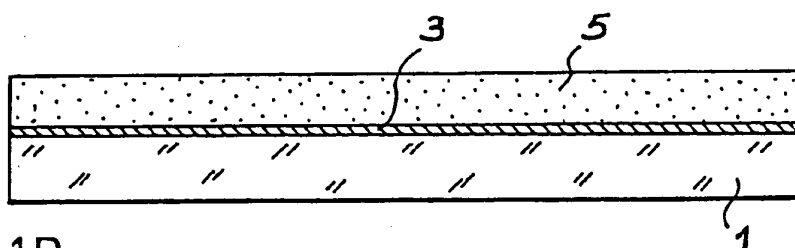


FIG. 1B

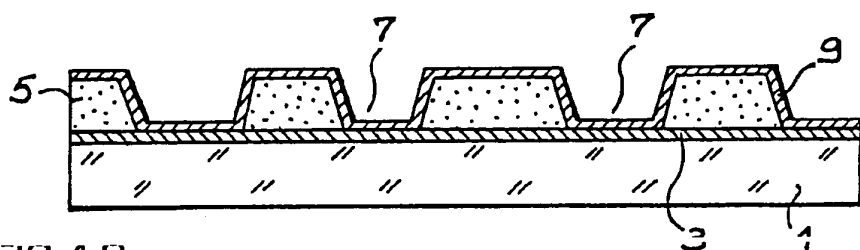


FIG. 1C

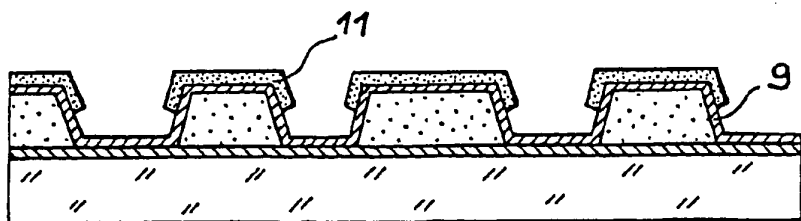


FIG. 1D

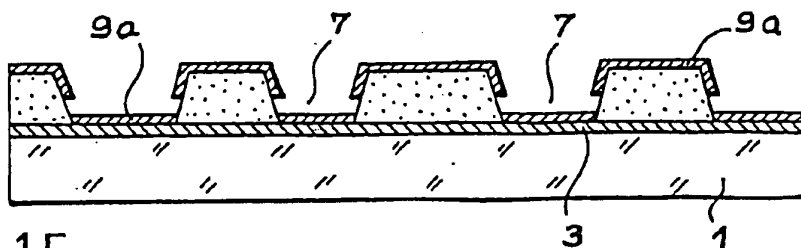


FIG. 1E

2/3

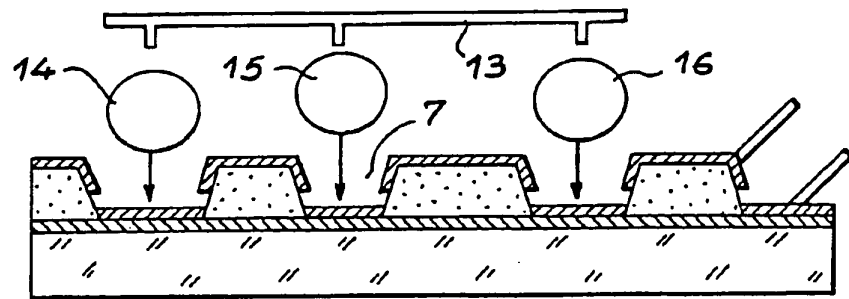


FIG. 1F

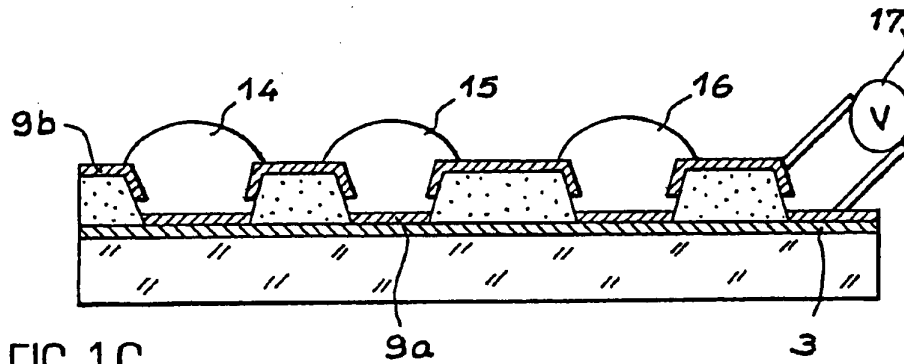


FIG. 1G

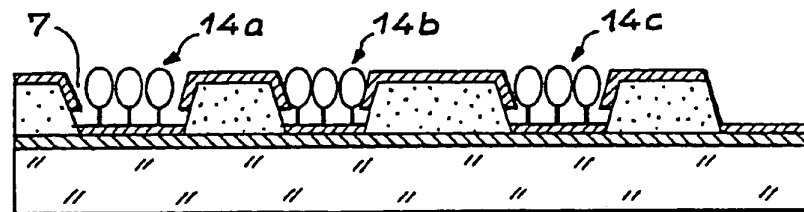


FIG. 1H

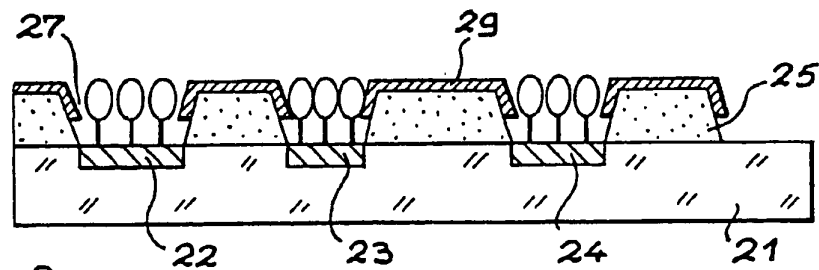


FIG. 2

3 / 3

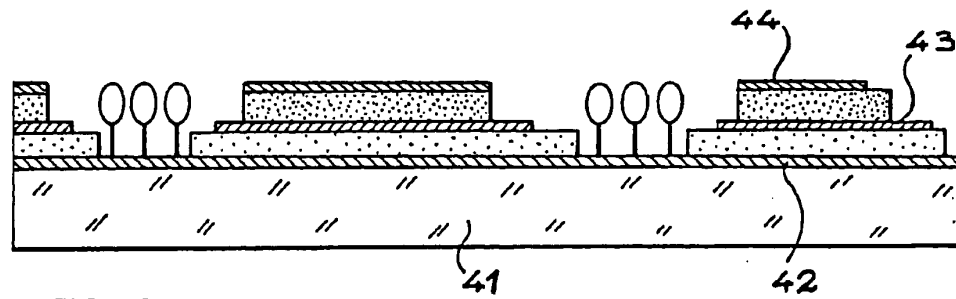
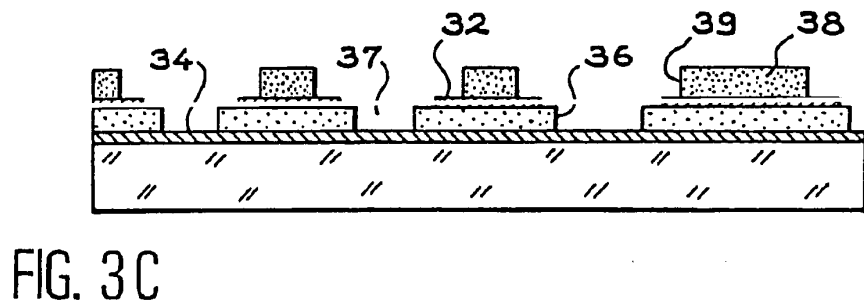
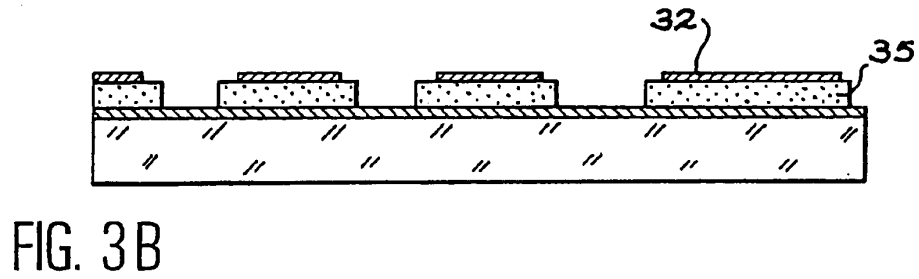
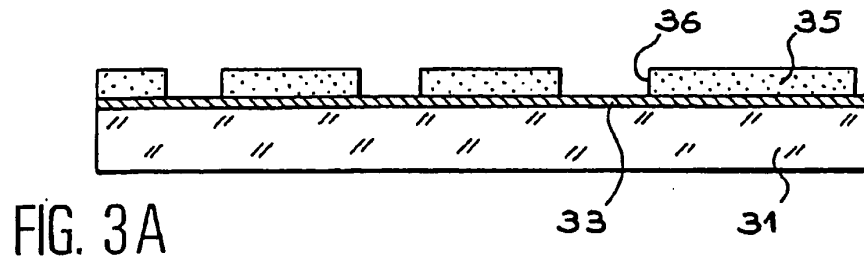


FIG. 4

2781886

REPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL  
de la  
PROPRIETE INDUSTRIELLE

**RAPPORT DE RECHERCHE  
PRELIMINAIRE**

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement  
national

FA 565597  
FR 9809868

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
Y	US 5 653 939 A (KOSICKI BERNARD B ET AL) 5 août 1997 * colonne 4 - colonne 6; figure 15 *	1-10
Y	WO 93 06237 A (ALLAGE ASSOCIATES INC) 1 avril 1993 * exemple 3 *	1-10
A	EP 0 402 917 A (BIOCIRCUITS CORP) 19 décembre 1990 * le document en entier *	1,6
A	WO 96 28538 A (MESO SCALE TECHNOLOGIES LLC) 19 septembre 1996 * exemples *	1,6
A	US 5 776 791 A (TEOULE ROBERT ET AL) 7 juillet 1998 * colonne 2 - colonne 4 *	1,6
X	COSNIER, S.: "Electropolymerization of amphiphilic monomers for designing amperometric biosensors." ELECTROANALYSIS, vol. 9, no. 12, 1997, pages 894-902. XP002101569 * le document en entier *	1,6
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
		G01N C12Q
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
3 mai 1999		Moreno, C
<p><b>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</b></p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons &amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>		



===== WPI =====

TI - Production of multi-cell micro-analysis chip for biological or chemical analysis by depositing conducting layer on an inert base and making cells using an isolating material

AB - FR2781886 NOVELTY - Chips are produced by depositing a conducting layer (3) on an inert base, then making cells using an isolating material, and capping the tops of the cell walls (9b) and lining the base of the cells with another conducting layer (9a). Electrolytic solutions (14 to 16) can then be added to each cell and an electric current applied to fix the reagents to the electrodes in each cell.

- DETAILED DESCRIPTION - An INDEPENDENT CLAIM is also included for multi-cell analysis chips produced by this method.
- USE - For chemical or biological analysis of samples. Chemicals analyses include measurement of physical phenomena in an integrated circuit as used in air bag technology. Biological uses includes DNA testing or pharmacological screening tests.
- ADVANTAGE - Reagents are fixed using a single electropolymerization step.
- DESCRIPTION OF DRAWING(S) - The drawing shows a cross-section through a chip during manufacture.
- Conducting layer 3
- Secondary conducting layers 9a and b
- Electrolytic reagent solutions 14 to 16
- Electricity source 17
- (Dwg.1G/4)

PN - FR2781886 A1 20000204 DW200016 G01N33/543 023pp

PR - FR19980009868 19980731

PA - (COMS ) COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE

IN - CAILLAT P; CLERC J F

MC - A12-V03C2 B11-C08B B11-C08E J04-B01

S03-E03C S03-E14A S03-E14H4 S03-E15 U11-E02A2 U12-B03E V06-L03 V06-U10

DC - A96 B04 J04 Q68 S03 U11 U12 V06

IC - B01L3/00 ;B81B7/00 ;B81C1/00 ;G01N27/26 ;G01N33/543

AN - 2000-173844 [16]